Vestnik zoologii **32**(3): 49–53, 1998

УДК (591.85+591.436):597.8

ТОПОГРАФИЯ И СТРУКТУРА СКОПЛЕНИЙ ПИГМЕНТ-СОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК В ПЕЧЕНИ ЛЯГУШКИ ОЗЕРНОЙ (*RANA RIDIBUNDA*)

Н. М. Акуленко

Институт зоологии НАН Украины, ул. Б. Хмельницкого, 15, 252601 Киев-30, ГСП, Украина

Получено 23 апреля 1997

Топография и структура скоплений пигмент-содержащих клеток в печени лягушки озерной (*Rana ridibunda*). Акуленко Н. М. — В статье рассматривается структура, топографическое положение и состав скоплений пигмент-содержащих клеток в печени лягушки озерной. В скоплениях обнаруживаются пигментные клетки, макрофаги, а также коллагеновые волокна и прослойки. Скопления топографически связаны с синусоидами и сообщаются с их просветами. Делается вывод, что скопления пигмент-содержащих клеток в печени амфибий не тождественны меланомакрофагальным центрам рыб, несмотря на значительное сходство.

Ключевые слова: макрофаги, пигмент, печень, амфибии.

Topography and Structure of the Pigment Cell Aggregation in the Liver of the Frog (*Rana ridibunda*). Akulenko N. M. — In this paper we display the structure, topographic localization and composition of the pigment-containing cells agregations in the liver of the frog, *Rana ridibunda*. Agregation consist from pigment cells, macrophages, and collagen fibrills and layers. Agregations have topographic relations with the sinusoids and their intercellular spaces correspond with lumens of the sinusoids. We do the conclusion that pigment-containing cells agregations are not identical with the fish melanomacrophage centres despite the similarity.

Key words: macrophages, pigment, liver, amphibia.

Введение

Скопления пигмент-содержащих клеток (т. н. меланомакрофагов) давно описаны в кроветворных органах (селезенке, печени, почках) рыб различных филогенетических групп. За ними в литературе утвердилось название меланомакрофагальных центров (Agius, 1980; Горышина, Чага, 1990). По существующим представлениям меланомакрофагальные центры участвуют в иммунном ответе рыб и в значительной степени выполняют функцию герминативных центров, которые у рыб отсутствуют (Горышина, Чага, 1990; Herraez, Zapata, 1986). С другой стороны, есть многочисленные указания на то, что меланомакрофагальные центры рыб играют важную роль в метаболизме и неспецифической защите (Горышина, Чага, 1990; Herraez, Zapata, 1986). У амфибий подобные образования не описаны, хотя само наличие пигмент-содержащих клеток в печени и селезенке известно достаточно давно. Отмечена топографическая связь отложений пигмента с синусоидами (Горышина, 1980); с местами, где происходит фагоцитоз (Manning, Horton, 1984). Е. Н. Горышина (1980) в селезенке травяной лягушки обнаружила гигантские "меланомакрофаги", содержащие десятки и даже сотни ядер на одном срезе. Однако, учитывая, что эти образования рассматривались только на гистологических срезах, даже сам автор не исключает возможность того, что речь идет не о "гигантских клетках", а о конгломерате клеток. Таким образом, обширные скопления пигмент-содержащих клеток, обнаруженные нами (Акуленко, 1996) в печени амфибий, не были предметом специального исследования. Целью настоящей работы было изучение топографии и структуры скоплений пигмент-содержащих клеток в печени лягушки озерной с точки зрения их функции, а также выявления сходства и различия с меланомакрофагальными центрами у рыб.

Материалы и методы

В опыте было использовано 35 половозрелых самцов лягушки озерной (*Rana ridibunda*), отловленных в окр. г. Киева. Печень для гистологического исследования фиксировали по Буэну и окрашивали гематоксилином Майера-эозином, паноптическим методом и, выборочно, по Малори для

выявления коллагеновых и ретикулиновых волокон. Из оригинальной прописи Малори мы исключили окраску фуксином, который интенсивно окрашивал цитоплазму гепатоцитов и маскировал соединительнотканные прослойки между ними. Для выявления фагоцитирующих клеток на срезах трем животным в подкожные лимфатические мешки вводилась взвесь китайской туши на физрастворе; печень для гистологического исследования забирали через 6 и через 24 ч. Затем на срезах производилось отбеливание пигментов перманганатом калия (Пирс, 1962), чтобы были отчетливо видны частицы туши. Кроме того, для световой микроскопии изготавливали мазки печени и окрашивались по Паппенгейму.

Образцы ткани для электронной микроскопии фиксировали 2,5%-ным глютаральдегидом и 1%-ным OsO_4, заключали в аралдит, контрастировали уранилацетатом и по Рейнольдсу (Уикли, 1975). Ультратонкие срезы просматривали в электронном микроскопе "ТЕСЛА-БС 500".

Результаты и обсуждение

Скопления пигмент-содержащих клеток в печени лягушки озерной различаются по размерам, структуре и клеточному составу (рис. 1, *а—е*). Однако сравнение большого количества таких скоплений между собой, в том числе после отбеливания пигмента, показывает, что мы имеем дело с одними и теми же структурами, а морфологическое разнообразие зависит от степени зрелости и функционального состояния входящих в них клеток. Во всех случаях скопления пигментных клеток отчетливо выделяются на фоне паренхимы печени, а входящие в их состав клетки легко отличимы от гепатоцитов.

Меланомакрофагальные центры рыб всегда окружены сплошной мембраной, ШИК-положительной и аргирофильной (Agius, 1980). В печени лягушки между пигмент-содержащими клетками располагаются коллагеновые прослойки (особенно заметные при окраске по Малори), однако сплошной мембраны, отделяющей пигментные скопления от паренхимы печени, у них нет (рис. 1, *г*). Волокна, образующие внутренний каркас, хорошо видны в тех скоплениях, в которых много вакуолизированных и разрушенных клеток (рис. 1, *г*). Коллагеновые прослойки пигментных скоплений соединяются с соединительнотканными прослойками между гепатоцитами и с базальными мембранами синусоидов. При электронномикроскопическом исследовании видны отдельные пучки коллагеновых фибрилл, проходящих между клетками в скоплениях. Скопления пигментных клеток топографически связаны с синусоидами, хотя площадь крупных скоплений во много раз превосходит диаметр синусоида, и протяженность контакта оказывается относительно небольшой. Крупные скопления контактируют с несколькими синусоидами. Обычно там, где скопления соприкасаются с синусоидами, базальная мембрана и эндотелий отсутствуют, и клетки, входящие в состав скопления, могут непосредственно контактировать с циркулирующей кровью (рис. 1, *д*). На электронограммах видны занесенные в скопления клетки крови, в частности эритроциты (рис. 3). Наличие эритроцитов служит доказательством того, что поступающая в печень кровь проникает в такие скопления, потому что эритроциты, в отличие от лейкоцитов, не способны к самостоятельным миграциям за пределы сосудистого русла.

На срезах в составе скоплений видно от 2—3 до десятков и сотен клеток. Структура скоплений зависит от их клеточного состава, который, в свою очередь, определяется временем года и физиологическим состоянием животного. В зависимости от этих факторов скопления могут быть плотными и наполненными пигментом, когда в них преобладают пигментные клетки (рис. 1, *в*), или, помимо пигментных клеток, содержать большое количество макрофагов, поглощающих пигмент, который выделяется из пигментных клеток (рис. 1, *а*; рис. 2). Наконец, встречаются скопления, в которых преобладают дегенерировавшие макрофаги и дегенерировавшие пигментные клетки (рис. 1, *б*). В таких скоплениях коллагеновый каркас сохраняет прежнюю форму, но большинство его яче-

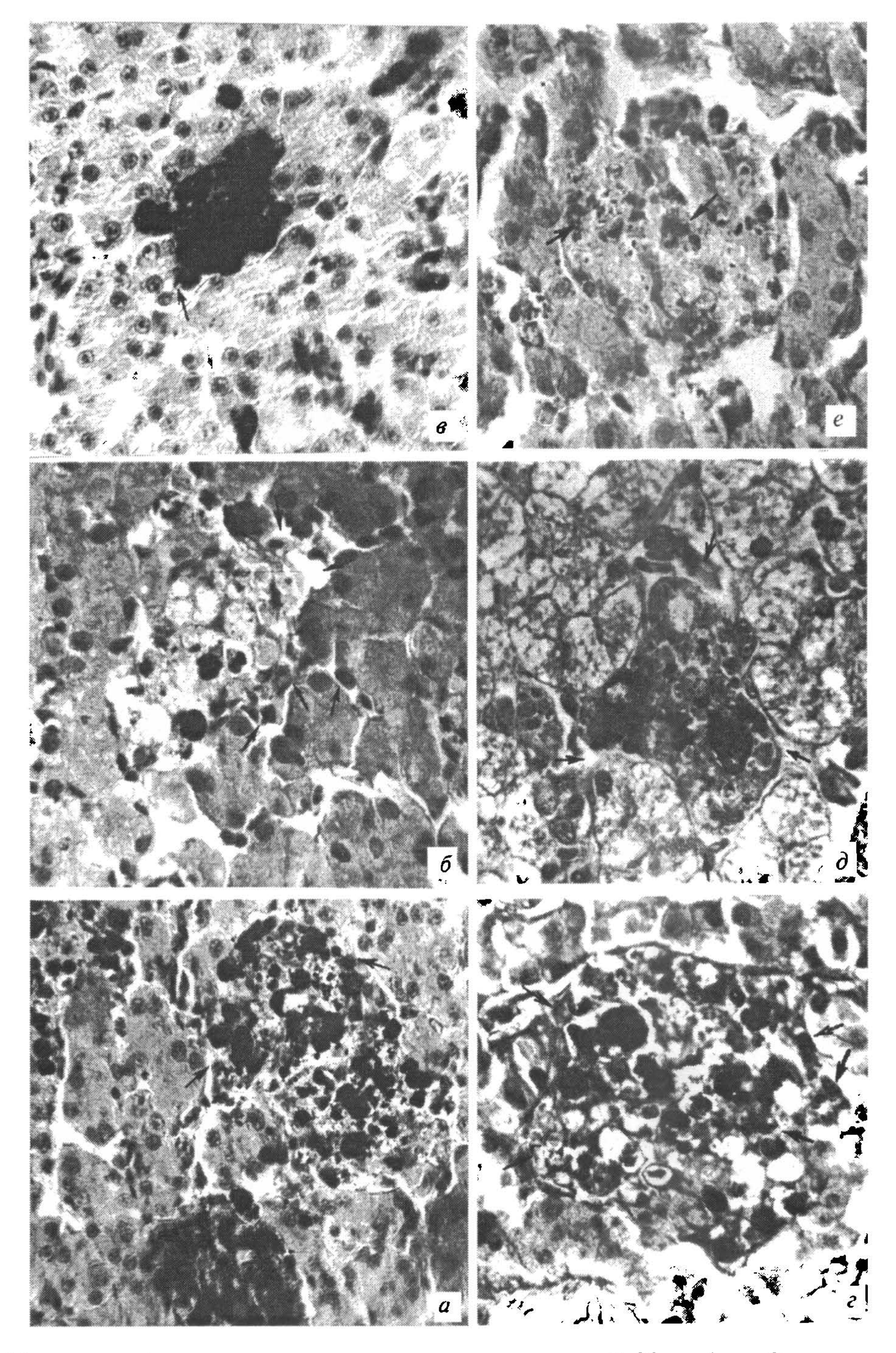


Рис.1 Меланомакрофагальные скопления в печени лягушки озерной. Микрофото. Окраска гематоксилином Майера-эозином (*а, б, в, е*) и по Малори (*г, д*). Отбеливание пигментов (*е*). Ув. 200: *а—д* — стрелками обозначены просветы синусоидов, примыкающих к скоплениям; двойными стрелками на рис. *г* обозначены участки контакта между пигментным скоплением и паренхимой печени, в которых отсутствует коллагеновая прослойка; *е* — скопление через 24 ч после введения туши. Видны макрофаги с частицами туши (стрелки) и отдельно лежащие частицы туши.

Fig. 1. Melano-macrophagal aggeragations in the frog liver. Microphotograph. Stained with Mayer hematoxylin-eosin (*а, б, в, е*) and by Mallory (*г, д*). Pigment bleaching (*е*). x 200: *а—д* — arrows indicate sinusoid lumens joining aggregations; double arrows on the fig. *г* indicate contact areas between pigment aggregation and liver parenchyme with collagen layer absent; *е* — aggregation after 24 hr after ink injection; macrophages with ink particles (arrows) and separate ink perticles are visible.

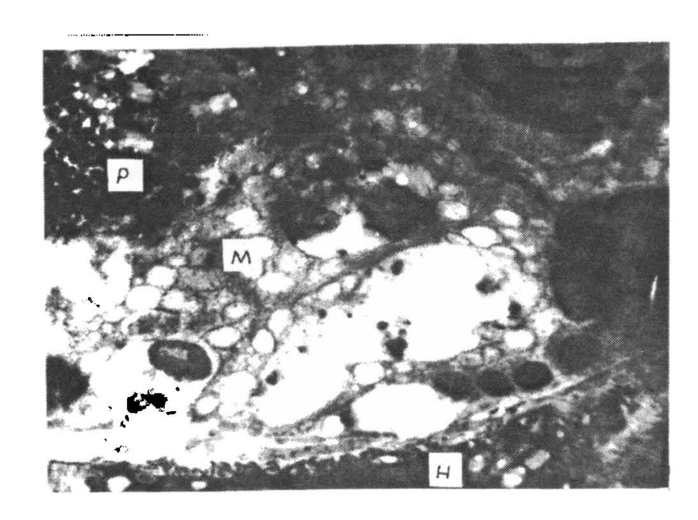


Рис. 2 Меланомакрофагальное скопление в печени лягушки озерной. Электронограмма. Ув. 4 000. Видны: пигментная клетка (*P*), макрофаг, фагоцитирующий пигментные гранулы (*M*), гепатоцит (*H*).

Fig. 2. Melano-macrophagal aggeragations in the frog liver. Electronograph. x 4,000. Pigment cell (*P*), a macrophage phogocyting the pigment granules (*M*), hepatocyte (*H*) are visible.

ек пусты или заполнены разрыхленным клеточным детритом, и только в некоторых местах остаются целые пигментные клетки или макрофаги.

После введения туши и отбеливания пигментов в скоплениях пигментных клеток становятся видны макрофаги, фагоцитировавшие частицы туши. Через 24 ч после введения большая часть туши обнаруживается в скоплениях пигментных клеток, частично в цитоплазме макрофагов, а некоторые частицы, по-видимому, свободно лежат между клетками (рис. 1, *е*). Некоторое количество нагруженных тушью макрофагов видны в просветах синусоидов. По литературным данным, в меланомакрофагальных центрах рыб чужеродные частицы, в том числе частицы туши, первоначально поступают в эндотелиальные клетки и в цитоплазму одиночных макрофагов внутри синусоидов, и только потом перемещаются в меланомакрофагальные центры (Herraez, Zapata, 1986). Вероятно, у лягушек дело обстоит так же.

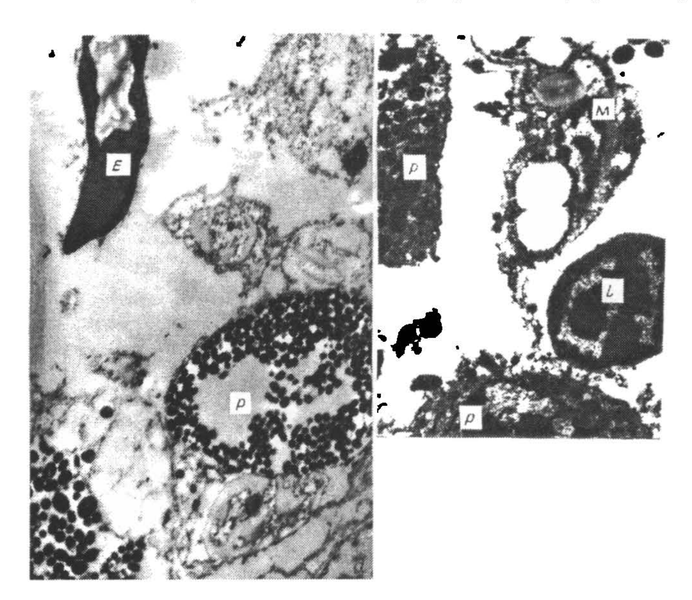


Рис. 3 Разрыхленные меланомакрофагальные скопления в печени лягушки озерной. Электронограммы. Ув. 4 000: *а* — разрушенная пигментная клетка (*P*) и эритроцит (*E*); *б* — фрагмент вакуолизированного макрофага (М), пигментные клетки (*P*), лимфоцит (*L*).

Fig. 3. Loosen melano-macrophagal aggregation in the frog liver. Electronographs. x 4,000: *a* — destroyed pigment cell (*P*) and erythrocyte (*E*); б — vacuolized macrophsge fragment (*M*), pigment cells (*P*), limphocyte (*L*).

Учитывая сведения о роли меланомакрофагальных центров рыб в иммунных реакциях, мы специально обращали внимание на наличие лейкоцитов в составе скоплений или в непосредственной близости от них. При этом отмечены малые лимфоциты, нейтрофилы, часто — эозинофилы, но всегда в виде единичных клеток. Очагов размножения миелоидных или лимфоидных клеток в скоплениях или вблизи от них нет. В литературе не раз высказывались предположения, что меланомакрофагальные центры рыб аналогичны герминативным центрам высших позвоночных. Мы пока не можем делать никаких заключений

относительно бесхвостых амфибий; этот вопрос нуждается в самостоятельном исследовании. Можно только отметить, что контакты между малыми лимфоцитами и макрофагами в меланомакрофагальных скоплениях наблюдаются. С другой стороны, в них слишком мало лимфоцитов и много эозинофилов, что не характерно для герминативных центров.

Таким образом, данные, изложенные в этой и предыдущей статьях (Акуленко, 1994) свидетельствуют о том, что в состав скоплений входят различные клетки: собственно пигментные клетки, фагоцитирующие пигмент макрофаги и вакуолизированные клетки, появляющиеся в результате массового разрушения первых и вторых. В то же время, хотя меланомакрофагальные центры рыб хорошо изучены, в литературе нет сведений о том, что составляющие их клетки морфологически или функционально неоднородны. В скоплениях пигмент-содержащих клеток амфибий выявляются соединительнотканные волокна, но мембрана, подобная окружающей меланомакрофагальные центры рыб, отсутствует. Скопления пигмент-содержащих клеток у амфибий топографически связаны с синусоидами и не отделены от их просветов слоем эндотелия, тогда как меланомакрофагальные центры рыб связаны с более крупными сосудами, и нет данных, что они непосредственно сообщаются с их просветами (Agius, 1980). Наконец, у рыб меланомакрофагальные центры часто окружены слоем лимфоидных или миелоидных клеток (Agius, 1980; Горышина, Чага, 1990; Herraez, Zapata, 1986), а в скопления пигментных клеток у амфибий мигрируют только одиночные зрелые лейкоциты.

Таким образом, скопления пигмент-содержащих клеток в печени амфибий не идентичны меланомакрофагальным центрам, описанным у рыб: они отличаются и особенностями структуры, и топографическим положением, и клеточным составом. Называть их меланомакрофагальными центрами, как это делалось в соответствующей литературе (Горышина, Чага, 1990; Горышина, 1980), нет оснований. Учитывая, что в состав этих образований входит большое количество макрофагов и пигментных клеток, мы предлагаем для них термин "меланомакрофагальные скопления", который отражает сходство с меланомакрофагальными центрами рыб и в то же время показывает, что они не являются тождественными образованиями.

Акуленко Н. М. Пигмент-содержащие клетки в печени лягушки озерной // Цитология и генетика. — 1994. — № 6. — С. 80.

Акуленко Н. М. Скопления пигмент-содержащих клеток в печени амфибий // Актуальні питання морфології. — Тернопіль, 1996. — Т. 1. — С. 37—39.

Горышина Е. Н. Изучение кинетики репродукции и дифференцировки клеток нейтрофильно-макрофагального ряда травяной лягушки в различные сезоны года // Цитология. — 1980. — **22**, № 7. — С. 765—773.

Горышина Е. Н., Чага О. Ю. Сравнительная гистология тканей внутренней среды с основами иммунологии. — Л., Изд-во ЛГУ, 1990. — 320 с.

Пирс Э. Гистохимия. — М., Изд-во иностр. лит-ры, 1962. — 962 с.

Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. — М., Мир, 1975. — 324 с.

Agius C. Phylogenetic development of melano-macrophage centres in fish // J. Zool. — 1980. — **191**, p. 1. — P. 11—31.

Herraez M. P., Zapata A. G. Structure and function of the melano-macrophage centres of the goldfish Carassius auratus // Vet. Immunol. and Immunopathol. — 1986. — **12**, № 1. — P. 117—126.

Manning M. J., Horton J. D. RES structure and function of the amphibia // Reticuloendothel. System. A comprehensive treatise. — 1984. — Vol. 3. — P. 423—459.

ЗАМЕТКА

Первая находка в Европе *Symplesis ringoniella* Kamijo (Hymenoptera, Eulophidae) — паразита минирующих молей. [First Record of *Sympiesis ringoniella* Kamijo (Hymenoptera, Eulophidae) a Parasite of Leaf-mining Moths in Europe]. — *S. ringoniella* был известен из Приморского края, Кореи и Японии. В качестве хозяина для него указывалась минирующая моль *Phyllonorycter ringoniella* Mtsm. (Gracillariidae). Нами этот вид выведен из мин *Ph. pyrifoliella* Grsm., собранных в яблоневом саду в окр. г. Киева (с. Новоселки) (1 ♀ 15.09.63, det. Storozheva, 1990). — **С. В. Свиридов** (Институт зоологии НАН Украины, Киев).